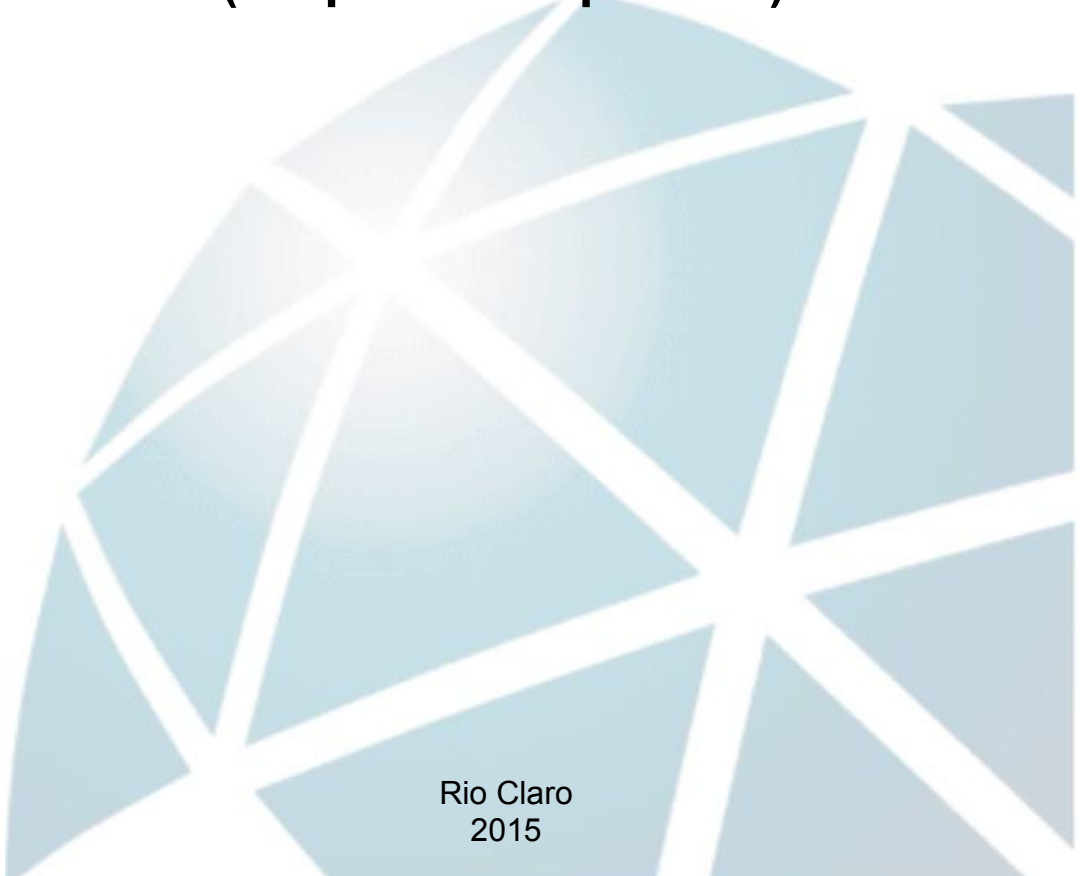

Ecologia

AILTON FABRÍCIO NETO

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO
TERMOPERÍODO SOBRE A TAXA
METABÓLICA DE REPOUSO EM
CASCAVÉIS, *Crotalus durissus*
(Serpentes: Viperidae)**



Rio Claro
2015

AILTON FABRÍCIO NETO

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TERMOPERÍODO SOBRE A
TAXA METABÓLICA DE REPOUSO EM CASCAVÉIS, *Crotalus durissus*
(Serpentes: Viperidae)

Orientador: Dr. Denis Otávio Vieira Andrade

Coorientador: Me. Rodrigo Samuel Bueno Gavira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biociências da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -
Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de
Ecólogo.

Rio Claro
2015

598.1 Fabrício Neto, Ailton
F126i Influência da temperatura e do termoperíodo sobre a taxa metabólica
de repouso em cascavéis, *Crotalus durissus* (Serpentes: Viperidae) / Ailton
Fabrício Neto. - Rio Claro, 2015
44 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots., mapas

Trabalho de conclusão de curso (Ecologia) - Universidade Estadual
Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Denis Otávio Vieira Andrade
Coorientador: Rodrigo Samuel Bueno Gavira

1. Réptil. 2. Regimes térmicos. 3. TMR. 4. Variação circadiana. 5.
Temperatura flutuante. 6. Temperatura constante. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Aos meus pais Ana e Luiz, e ao irmão Sérgio, pelas cobranças e apoio, possibilitando o andamento deste trabalho.

A Daniela, namorada mais linda do mundo, amor da minha vida, por todo seu amor e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Importantíssimo começar agradecendo aos meus pais, afinal, se eles não tivessem ligado para a cegonha há 25 anos, eu não estaria aqui hoje. E também por todo o amor, carinho, broncas, risadas, viagens, tristezas, mais risadas, alegrias e tudo que só nós sabemos que passamos em todos esses anos (nós somos Ana Lúcia, Luiz, Sérgio e Ailtinho).

Ao mini-mim (Sérgio), que nasceu 2 anos e 9 dias depois de mim e chegou causando, arrumando briga, levando mordidas... Mas, entre socos e chutes, sobrevivemos e nos damos muito bem.

A Daniela, amor da minha vida, pelo amor, companheirismo, carinho, beijos, abraços, aulas de boxe e, claro... PÁ!!! ROMANCE! Muito obrigado por todas as jantas, almoços (hun... Comida =D) e baladas que (não) fomos.

A toda a minha família.

E, muito importante, minhas CHEFIAS!

Ao orientador Denis, pelas rabanadas (não) pagas, os churrascos na sua casa, as centenas de correções, as viagens de campo, etc... E por sempre nos estimular a realizar a pesquisa de maneira correta.

Ao co-orientador Rodrigo Gavira (Penapolense) pelos almoços pagos, pelo treinamento para mexer com as serpentes, pelas caronas, pelas viagens ao Butantan (com direito a almoço no Feijão de Corda), as milhares de correções nesse trabalho.

A Chefia Fernanda Centeno por me levar para conhecer (e trabalhar, claro) na Serra do Cipó, um dos lugares mais lindos que já visitei. Também agradeço aqui pela alimentação, Cipó Rural, sempre alegrando nosso campo! E aqui também agradeço o Beto, o Zé Gotinha e a Dani, enfim, todo o pessoal que sempre ajudou e tiraram todas as minhas dúvidas sobre serpentes e sapos em campo.

Ao Chefia Rafael, por me levar para os mais diversos campos em diversos núcleos de conservação da Mata Atlântica (Santa Virgínia, Cunha, Picinguaba), onde pude entrar em contato com diversas espécies de anfíbios e aprender mais sobre esses animais tão fascinantes (não tanto quanto as serpentes, claro).

Agradeço as chefias Juliana (filha do dono do Tikito), Luá,, Muzambinho, Jussara e Bruna (Garrafinha), por todas as conversas, risadas, ajudas, enfim,

companheiros para uma vida toda! Tornando meu ambiente de “trabalho” muito, mas muito mais feliz =D.

Aos técnicos do jacarezário: Carlinhos, pelas primeiras aulas para manutenção de serpentes e por me ensinar a me importar principalmente com a segurança, evitando acidentes. Jhonny, por ajudar no treinamento também e me deixar mexer com as cobras aos poucos. Ao Fernando, Ayrton e Emigdio, por me ajudarem sempre que eu precisei (álcool, formol, vidro de coleção, camundongos, entre as mais diversas tarefas).

A galera da Ecologia 2011 (vou tentar colocar todos), em especial a Rep. Lenda (P.P.O.H.P.):

- Ades, por ser o suco de soja mais divertido de todos os tempos.
- Pardal, espécie invasora, porém amigável.
- Fruta, por que frutas têm vitaminas.
- Quinto, por vir depois do quarto e antes do sexto.
- Nativo, porque isso que é faculdade!
- Japonês, um cara muito seletivo.

O resto da Turma: A Saúde, por me provar que não há nada de errado com meu sistema imunológico; ao Mau-mau, por toda a ajuda prestada com análises, leituras, correções, abraços fortes (amplexos talvez); a Elisa, por ter me recebido no Rio de Janeiro e me levado para conhecer a “cidade maravilhosa”; ao Baleia (Boto fé, pode crer...); ao C3PO, que apesar de ser um cara meio tenso, sempre está disposto a ajudar; ao Rambo, por toda sua delicadeza e sensibilidade mostrada durante os anos de graduação; ao Pagode, porque só por causa dele eu posso falar que curto Pagode; a Cecília, eu não posso colocar aqui a mensagem que você merece, porque senão meu T.C.C. seria classificado como “para maiores de 18 anos”, mas sinta-se contemplada; a Magaiver, por todas as risadas e por estar cuidando bem da minha camiseta da cascavel; a Jaque, pelas demonstrações de como se imitar uma curicaca (*Theristicus caudatus*) performadas com tamanha perfeição, que não consigo descrever em palavras; a Wandinha, pelos trabalhos de campo no horto; a Yoshi, por salvar o Mário no Super Mário World; a Pati, por me mostrar que reclamar nunca é demais; a Mari (Bic, Zula, Letwitter), por ter a maior quantia de apelidos a não pegar; a Jamile (uma noites) por mudar nossa visão sobre o Ades; a Magal, porque eu gosto do Sidney Magal; a Sara, que mesmo quando está meio estranha, é uma grande amiga; a Mônica, por fazer eu me sentir melhor

em relação ao meu gosto musical (=D); ao Da Lua, pelo kit de banho, que não usei até hoje, afinal, me chamo Cascão...; ao Estima, pela ajuda na semana do bixo abrindo as cervejas com os dentes (AI); a Carol, pelos abraços diários XD; a Nathi, por comparecer as aulas da Zezé como monitora e fazer parte da equipe; ao Pokémon, por ser 900 em 1 e a cada ano aumentar ainda mais; a Cereja, por ser minha parceira na brincadeira do barbante no primeiro dia da semana do bixo; a Long, por me apresentar a um grande amigo que tive (Remela); ao Havaiana (holístico e intrínseco) e a Paula (nem sei direito o que falar). Também da Turma: o Túlio, por todos os rangos e a Lçá, por ser americanense e me entender quando eu estava fulo da vida com o prefeito.

Aos meus amigos de Americana e região, em especial Jordano (irmão) e Gabi (tia), Tiago (Fila), Lucas e Réjaum.

Um agradecimento muito especial aos meus amigos mais verdadeiros, que sempre demonstraram o amor mais sincero, que independente de qualquer coisa sempre me alegraram: Sally, Meg, Nina, Pituca e, agora, Bóris. Em Rio Claro: Groselha, Beta e Luck. Agora os não convencionais: Bistequinha, Torresminho, Maminha e Mignonzinho. E a parte que eu choro: Miranda, Pixuinha, Tobias e Neguinha. E os que foram vítimas da crueldade de outro bicho (homem): Coca e Remela.

E as minhas cascavéis que, embora não me amem como os animais acima, me deixaram viver para contar a história (no caso, esse T.C.C.), e a todas as outras serpentes, animais maravilhosos que são muito mal compreendidos.

Por fim: Vó Laide, Tia Ana, Bisa Henriqueta, Primo Michel, Tia Lúgia, Murilão... Quantas saudades deixaram.. Mas um dia nos veremos de novo =).

RESUMO

Serpentes são animais ectotérmicos e, portanto, têm suas funções fisiológicas fortemente influenciadas pela temperatura. Por exemplo, a taxa metabólica de repouso (TMR) destes animais aumenta com o aumento da temperatura corpórea. Entretanto, as determinações metabólicas em organismos ectotérmicos, inclusive em serpentes, geralmente são realizadas através da submissão dos animais à regimes constante de temperatura. Este procedimento experimental, embora amplamente utilizado, aceito e certamente adequado em alguns casos, submete os animais à uma situação bastante diversa daquela experimentada pelos animais na natureza. De fato, ectotérmicos são conhecidos por apresentarem variações amplas de sua temperatura corpórea ao longo do dia e/ou estações do ano. Se esta discordância entre a biologia termal dos animais e as condições experimentais, por exemplo ao longo do ciclo circadiano, afeta as determinações das taxas metabólicas dos animais ectotérmicos, permanece ainda bastante incerto. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo testar os efeitos de diferentes regimes térmicos (flutuante vs constante) em diferentes faixas de temperatura sobre a TMR de cascavéis (*Crotalus durissus*). Para tanto, a TMR das cascavéis foi medida através das taxas de consumo de oxigênio (\dot{V}_{O_2}) nas temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Para os regimes flutuantes, as serpentes foram medidas em termoperíodos de 12/12 horas, compostos da seguinte forma: 15°C e 25°C; 20°C e 30°C; e 25°C e 35°C. Nossos resultados mostram que a TMR de *C. durissus* aumenta conforme o aumento da temperatura, independente do regime térmico. A TMR obtida nos regimes constantes de 20°C e 25°C não diferiu daquela medida nos regimes flutuantes correspondentes (i.e., 15 – 25°C e 20 – 30°C). Entretanto, a 30°C constante, a TMR foi significativamente maior do que aquela obtida no regime flutuante de 30°C (25 – 35°C). Isso indica que os efeitos potenciais da submissão das serpentes à regimes térmicos diversos de sua biologia termal adquirem maior importância com o aumento da faixa de temperaturas considerada.

Palavras-chave: TMR. *Crotalus durissus*. Variação Circadiana. Temperatura. Termoperíodo.

ABSTRACT

Snakes are ectothermic animals and, therefore, their physiological functions are strongly affected by temperature. For instance, the resting metabolic rate (RMR) of these animals increases with the rise in body temperature. However, metabolic determinations in ectothermic organisms, including snakes, are generally made by submitting the animals to constant temperature regimes. This experimental procedure, although widely used, accepted and certainly suitable in several cases, submits the animals to a very different situation from that experienced by them in nature. In fact, ectotherms are known by presenting extensive variations in their body temperatures through the day and/or seasons. If this disagreement between the thermal biology of the animals and the experimental conditions, for instance over the circadian cycle, affects the determinations of metabolic rates of ectotherm animals, remains quite uncertain. Thus, this study aimed to test the effects of different thermal regimes (fluctuating vs constant) in different temperature ranges over the TMR of rattlesnakes (*Crotalus durissus*). Therefore, the TMR of rattlesnakes was measured by the oxygen consumption rates (\dot{V}_{O_2}) in the constant temperatures of 15°C, 20°C, 25°C, 30°C and 35°C. For fluctuating regimes, snakes were measured in thermoperiods of 12/12 hours, as follows: 15°C and 25°C; 20°C and 30°C; 25°C and 35°C. Our results show that the RMR of *C. durissus* rises as the temperature increases, regardless of the thermal regime. The obtained RMR in the constant regimes of 20°C and 25°C was not different from that measured in the correspondent fluctuating regimes (i.e., 15 – 25°C e 20 – 30°C). However, at constant 30°C, the RMR was significantly higher than that obtained in the 30°C fluctuating regime (25 – 35°C). This indicates that the potential effects in submitting of snakes to different thermal regimes of its thermal biology become more important with increasing temperature range considered.

Keywords: RMR. *Crotalus durissus*. Circadian Variation. Temperature. Thermoperiod.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Indivíduo adulto de cascavel (*Crotalus durissus*).....17
- Figura 2** - Mapa da América-Latina destacando a distribuição geográfica de *C. durissus* (em amarelo).....17
- Figura 3** - Exemplar de *C. durissus* dentro da câmara respirométrica utilizada para a aquisição dos dados.....19
- Figura 4** - Representação esquemática do sistema de respirometria usado no estudo. O computador demonstra a queda na concentração fracional de O₂, após o ar passar pela câmara onde as cobras estavam inseridas. O analisador de O₂ mede a porcentagem de oxigênio no ar que entra (setas azuis) e sai (setas vermelhas) das câmaras respirométricas. O ar atmosférico é dividido em sete canais pelo fluxo de ar.20
- Figura 5** – Variação da temperatura corpórea (círculos pretos) e experimental (círculos brancos) nos três regimes termais flutuantes. A e B ilustram as alterações de temperatura do regime 20_TF para a mudança de 25 para 15°C e de 15 para 25°C, respectivamente; C e D ilustram as alterações de temperatura do regime 25_TF para a mudança de 30 para 20°C e de 20 para 30°C, respectivamente; E e F ilustram as alterações de temperatura do regime 30_TF para a mudança de 35 para 25°C e de 25 para 35°C, respectivamente.24
- Figura 6** - Taxa metabólica de repouso (TMR) de *C. durissus* nas temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e 35°C. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.26
- Figura 7** - Taxa metabólica de repouso (TMR) de *C. durissus* nas temperaturas flutuantes de 20°C_TF (azul), 25°C_TF (verde) e 30°C_TF (vermelho). Letras

diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.27

Figura 8 - TMR de *C. durissus* nas temperaturas constantes, flutuantes e isoladas. **A)** 15°C_TI/TC; **B)** 20°C_TI/TF/TC; **C)** 25°C_TI/TF/TC; **D)** 30°C_TI/TF/TC; e **E)** 35°C_TI/TC. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.30

Figura 9 - Variação da TMR de *C. durissus* nos regimes constantes (20°C, 25°C e 30°C; triângulos vermelhos) e nos regimes flutuantes (15-25°C = média 20°C; 20-30°C = média 25°C; e 25-35°C = média 30°C; círculos azuis) de temperatura. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre as temperaturas de um mesmo regime termal; o asterisco denota diferença estatística entre os tratamentos constantes e flutuantes. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens32

Figura 10 - Coeficientes de temperatura (Q_{10}) da variação da TMR de *C. durissus* nos intervalos dos regimes constantes (triângulos vermelhos) e dos regimes flutuantes (círculos azuis) correspondentes.34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Animais	16
3.2 Protocolo experimental	18
3.3 Respirometria.....	18
3.4 Validação dos regimes flutuantes de temperatura	20
3.5 Tratamento e Análise dos dados	21
4 RESULTADOS	23
4.1 Massa corpórea e validação dos regimes termiais	23
4.2 TMR em regimes térmicos constantes e Q_{10}	25
4.3 TMR em regimes térmicos flutuantes e Q_{10}	27
4.4 TMR em regimes térmicos constantes vs TMR em regimes térmicos flutuantes	28
5 DISCUSSÃO	35
5.1 TMR em regimes térmicos constantes e Q_{10}	35
5.2 TMR em regimes térmicos constantes vs TMR em regimes flutuantes.....	36
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A temperatura corpórea exerce uma influência importante em praticamente todos os aspectos comportamentais e fisiológicos dos organismos vivos (Huey e Stevenson, 1979; Huey, 1982; Kingsolver e Woods, 1997; Weinstein, 1998; Ojanguren e Braña, 2000; Mondal e Rai, 2001; Angilletta et al., 2002). Nos ectotérmicos, esta influência submete-se, de maneira bastante direta, às variações da temperatura ambiente, uma vez que nestes organismos a temperatura corpórea é fortemente correlacionada com a temperatura ambiente (Angilletta et al., 2002).

Assim, é razoável que os efeitos da variação da temperatura sobre uma enorme variedade de funções e processos tenham sido amplamente estudados em animais ectotérmicos (Huey e Stevenson, 1979; Andrews e Pough, 1985; Angilletta et al., 2002; Andrade et al., 2005; McCue, 2006; Niehaus et al., 2012). Em serpentes, por exemplo, é sabido que variações na temperatura corpórea afetam significativamente o metabolismo (Stevenson et al., 1985; Angilletta et al., 2002; Toledo et al., 2003), comportamento defensivo (Passek e Gillingham, 1997; Citadini e Navas, 2013), crescimento (Vinegar, 1974; Lourdaís et al., 2004), digestão (Wang et al., 2003), forrageio (Ayers e Shine, 1997), reprodução (Weil e Aldridge, 1979), além de várias outras funções biológicas.

Acontece, porém, que a determinação da influência da temperatura sobre diferentes parâmetros fisiológicos dos organismos ectotérmicos, taxa metabólica inclusa, geralmente é realizada através da submissão dos animais à condições experimentais com regimes térmicos constantes ao longo de todo estudo, não raro por diversos dias consecutivos (ver Secor, 2009). Por outro lado, temos que, em condições naturais, a temperatura corpórea dos ectotérmicos frequentemente apresenta uma variação circadiana considerável (Kingsolver, Higgins e Augustine, 2015; Colinet et al., 2015), decorrente tanto da variação térmica do ambiente como de comportamentos termorregulatórios específicos (Roe et al., 2004; Niehaus et al., 2012), como a busca por abrigos ou lugares mais expostos a radiação solar. Desta forma, a manutenção experimental dos animais sob regime constante de temperatura pode ser bastante diversa daquela experimentada sob condições naturais. Se esta discordância entre a biologia termal dos animais e as condições experimentais, por exemplo, ao longo do ciclo circadiano, afeta as determinações das taxas metabólicas dos animais ectotérmicos, permanece ainda bastante incerto.

Um dos parâmetros fisiológicos mais frequentemente estudados em organismos ectotérmicos em função de variações da temperatura corpórea é o metabolismo energético (Angilletta, 2009). Neste sentido, a variável mais básica a ser determinada é a taxa metabólica de repouso (TMR), que corresponde ao dispêndio energético necessário para a manutenção das funções fisiológicas básicas de um animal ectotérmico, quando este se encontra em completo repouso, em estado pós-absortivo e em condições de temperatura experimentalmente definidas (Bennett e Dawson, 1976). A TMR constitui um parâmetro integrativo central para avaliar as interrelações e compromissos energéticos de um organismo e, portanto, é frequentemente avaliada em função da variação da temperatura corpórea, permitindo considerações importantes geralmente focadas em aspectos de cunho ecofisiológico.

Os efeitos da temperatura sobre a TMR de um grande número de répteis (ver Andrade et al., 2005) e, mais especificamente, de serpentes (McCue e Lillywhite, 2002; Toledo et al., 2003; Wang et al., 2003; Zaidan e Beaupre, 2003; Bessler et al., 2010; Gavira e Andrade, 2013a) encontram-se amplamente difundidos na literatura. No entanto, com raras exceções, todos estes estudos foram conduzidos em regimes constantes de temperatura. Naqueles poucos estudos nos quais regimes térmicos diferentes dos constantes foram avaliados, os resultados apontam que a taxa metabólica pode ser afetada por diferenças no regime térmico ao qual os animais são submetidos (Carey, 1979; Bozinovic et al., 2013; Gavira e Andrade, 2013b; Stahlschmidt, Jodrey e Luoma, 2015). Por exemplo, a TMR da serpente urutu-cruzeiro (*Bothrops alternatus*), a 25°C, foi significativamente maior no regime térmico constante do que aquela medida em um regime flutuante (i.e., temperatura oscilava entre 20°C e 30°C a cada 12 horas), cuja temperatura média também era de 25°C (Gavira e Andrade, 2013b), indicando que o uso de um regime térmico flutuante diminui de maneira significativa a TMR de *Bothrops alternatus*.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo testar os efeitos de diferentes regimes térmicos (flutuante VS constante) em diferentes faixas de temperatura sobre a TMR de cascavéis (*Crotalus durissus*). Para tanto, a TMR das cascavéis foi medida através das taxas de consumo de oxigênio (\dot{V}_{O_2}) nas temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Para os regimes flutuantes, as serpentes foram medidas em termoperíodos de 12/12 horas compostos da seguinte forma: 15°C e 25°C; 20°C e 30°C; e 25°C e 35°C. Nossa

hipótese central é de que a manutenção experimental dos animais em regimes térmicos flutuantes, mais afins de sua biologia termal normal, resultem em taxas metabólicas menores em comparação aos regimes termais constantes de temperatura correspondente. Ademais, nós antecipamos que este possível efeito será mais marcante em faixas de temperatura mais elevadas.

2 OBJETIVO

O objetivo principal do presente estudo foi avaliar os efeitos de diferentes temperaturas e do termoperíodo sobre o metabolismo de repouso de cascavéis, *Crotalus durissus* (Serpentes: Viperidae). Dessa maneira, verificamos se a manutenção de *C. durissus* sob uma temperatura constante (i.e., distante da sua realidade biológica) acarretou em um incremento metabólico, evidenciando assim um potencial estresse térmico sofrido por estes animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

A cascavel sul-americana, *Crotalus durissus* (Linnaeus, 1758) (Figura 1), é um viperídeo de médio porte (até 1,5 m) com ampla distribuição geográfica (Figura 2), que ocorre do México até a Argentina, habitando tanto áreas de Cerrado (Campbell e Lamar, 1989) como regiões de Mata Atlântica (Marques et al., 2001). Essa espécie está subdividida em 12 subespécies com o registro de sete delas no Brasil (*C. d. cascavella*; *C. d. collilineatus*; *C. d. dryinas*; *C. d. marajoensis*; *C. d. ruruima*; *C. d. terrificus*; e *C. d. trigonicus*).

Crotalus durissus exibe hábitos terrestres e período de atividade tanto diurno quanto noturno (Marques et al., 2005; Sawaya, Marques e Martins, 2008; Tozetti e Martins, 2013). Apresentam dieta especializada em mamíferos, embora possam ocasionalmente se alimentar de lagartos (Almeida-Santos e Germano, 1996; Sant'Anna e Abe, 2007).

No presente estudo, foram utilizados treze indivíduos de *C. durissus*, de ambos os sexos, coletados em diversas regiões do estado de São Paulo, os quais passaram, repetidamente, por todos os tratamentos. As serpentes foram mantidas individualmente em abrigos de madeira (30 x 29 x 27 cm) com tampa de vidro e teto perfurado para ventilação, forrados com papelão corrugado. Esses abrigos foram dispostos em sala com temperatura controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), situada no Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Zoologia da Unesp de Rio Claro, SP.

A alimentação das serpentes foi constituída de camundongos (*Mus musculus*) oferecidos a cada 15 dias (quando não estavam em medição) e os animais tinham livre acesso à água. Apenas os animais que aparentavam estar saudáveis e que não estavam em processo de ecdise foram utilizados nos experimentos. Antes de cada medição, todas as serpentes foram mantidas em jejum por um período de 15 dias.

A permissão de coleta e manutenção dos animais foi emitida pelo IBAMA (n° processo: 22028-1), ao passo que a autorização para uso dos mesmos no presente estudo foi emitida pela Comissão de Ética no Uso de Animais, Unesp, Rio Claro, SP (CEUA, n° protocolo: 1492).

Figura 1 - Indivíduo adulto de cascavel (*Crotalus durissus*)

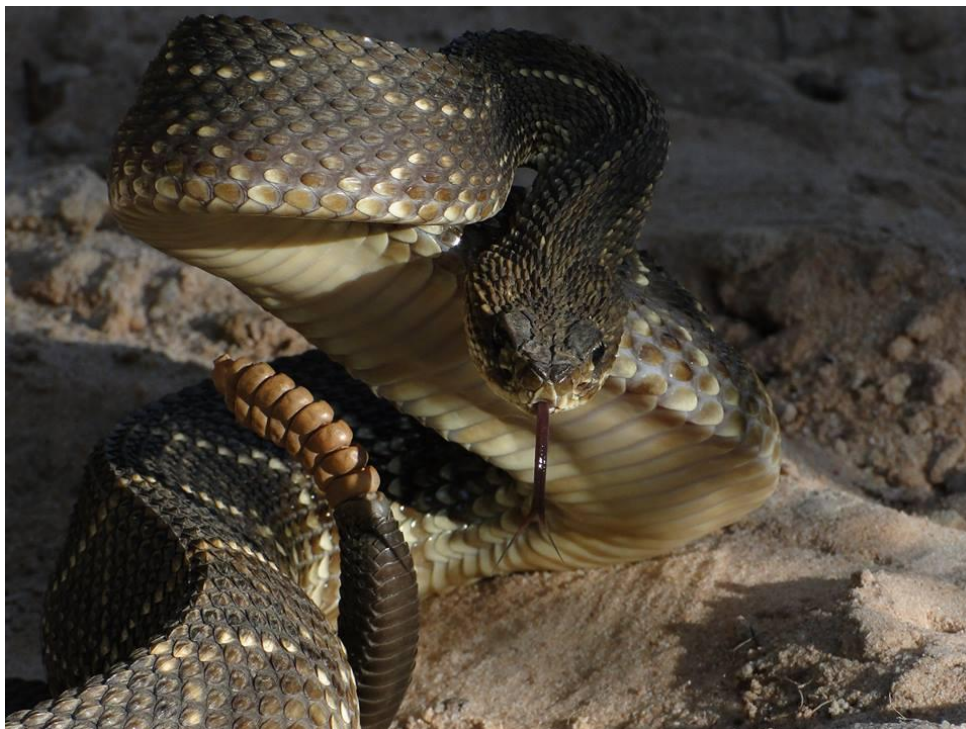


Foto: Cortesia de Rodrigo Samuel Bueno Gavira

Figura 2 - Mapa da América-Latina destacando a distribuição geográfica de *C. durissus* (em amarelo).



Fonte: www.iucnredlist.org, 2015.

3.2 Protocolo experimental

O $\dot{V}O_2$ das serpentes foi determinado sob regime de temperatura constante (TC) a 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Para as determinações nos regimes de temperatura flutuante (TF), termoperíodos de 12/12 horas foram compostos da seguinte forma: 15°C e 25°C; 20°C e 30°C; e, 25°C e 35°C. A média das temperaturas destes regimes flutuantes foi, portanto, equivalente aos regimes de temperatura constante de 20, 25 e 30°C, respectivamente.

Todas as serpentes foram medidas em todos os tratamentos de maneira aleatorizada, sendo que entre uma medição e outra foi observado um período mínimo de 15 dias para recuperação. Todas as medições foram realizadas em animais pós-absortivos. As temperaturas experimentais foram controladas através da manutenção dos animais dentro de uma câmara climática (Fanem, 347 CD; e Eletrolab, 122 FC) durante a realização dos experimentos. Os experimentos tiveram duração de quatro dias, dos quais descartávamos as primeiras 24 horas para a aclimação dos animais.

3.3 Respirometria

A TMR de *C. durissus* foi quantificada através da determinação das taxas de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) em um sistema automatizado de respirometria intermitentemente fechada. Após terem suas massas corpóreas aferidas, as serpentes eram individualmente colocadas em câmaras respirométricas hermeticamente lacradas, de volume adequado ao seu tamanho (700 – 2000 mL; Figura 3). As câmaras contendo os animais eram então transferidas para a câmara climática, previamente programada para o controle da temperatura e regime térmico desejado, e imediatamente conectada ao sistema respirométrico. Este sistema era composto por um controlador múltiplo de fluxo (Multiplexer TR-RM8, Sable Systems) programado (DATACAN V, Sable Systems) para intercalar um período de “fase aberta”, no qual as câmaras eram ventiladas com ar ambiente durante 60 minutos, com um período de “fase fechada” no qual que o ar contido nos respirômetros era recirculado através de um analisador de oxigênio (PA-1B, Sable Systems) por 10 minutos (Figura 4). A queda na concentração fracional de O_2 registrada durante a

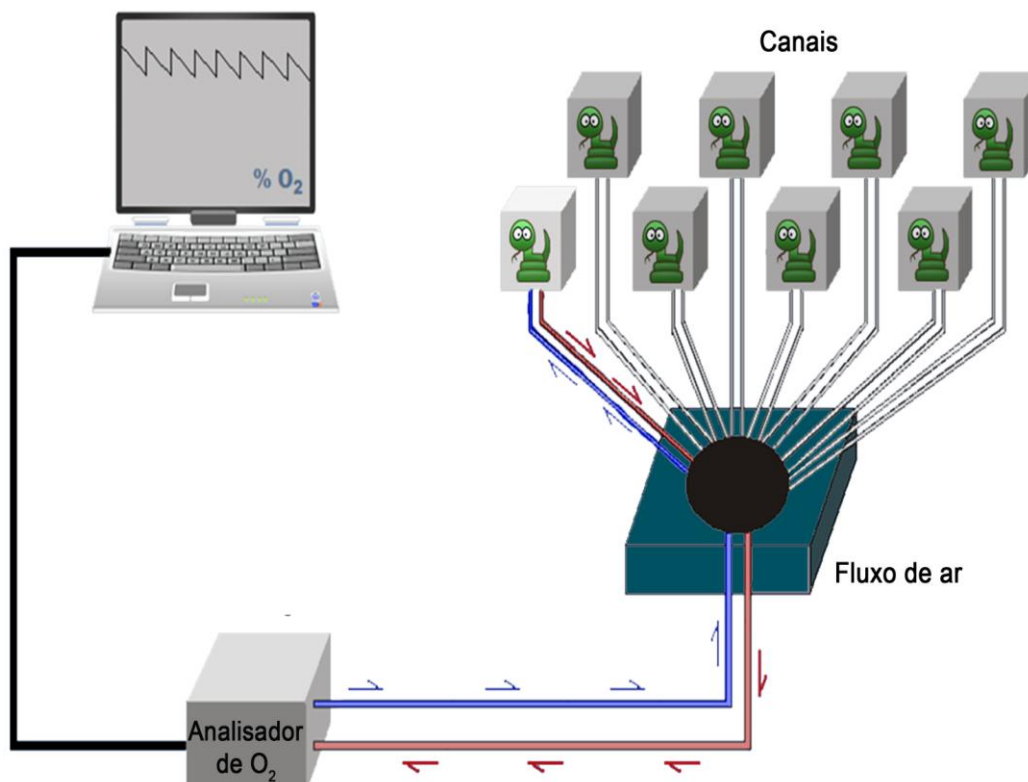
fase fechada foi utilizada para o cálculo do $\dot{V}O_2$. Portanto, nosso sistema permitiu determinar a taxa de consumo de O_2 , simultânea e rotativamente, para até sete serpentes, com base em medições de 10 minutos de duração intercalados por períodos de 60 minutos de renovação do ar das câmaras respirométricas.

Figura 3 - Exemplar de *C. durissus* dentro da câmara respirométrica utilizada para a aquisição dos dados.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 4 - Representação esquemática do sistema de respirometria usado no estudo. O computador demonstra a queda na concentração fracional de O₂, após o ar passar pela câmara onde as cobras estavam inseridas. O analisador de O₂ mede a porcentagem de oxigênio no ar que entra (setas azuis) e sai (setas vermelhas) das câmaras respirométricas. O ar atmosférico é dividido em sete canais pelo fluxo de ar.



Fonte: elaborado por Rodrigo Samuel Bueno Gavira.

3.4 Validação dos regimes flutuantes de temperatura

Os regimes flutuantes de temperatura, como já dito anteriormente, são compostos por duas temperaturas. Ocorre, porém, que a mudança entre essas temperaturas não ocorre de maneira instantânea, tampouco o equilíbrio entre a temperatura ambiente e a temperatura corpórea das serpentes. Assim, para validar as alterações de temperatura dos regimes flutuantes, nós implantamos registradores de temperatura (*dataloggers*, Maxim, modelo 1922L) em cascavéis ($n=4$) com massa similar aos animais experimentais. Após, nós submetemos as serpentes aos mesmos regimes flutuantes de temperatura descritos anteriormente (ver item 3.2).

Os registradores de temperatura foram cirurgicamente implantados e, posteriormente removidos, na cavidade visceral dos animais através de uma incisão ventro-lateral, posteriormente suturada com linha cirúrgica de nylon. Durante a cirurgia, os animais foram mantidos sob anestesia inalatória (isoflurano) e localmente tratados com anestésico injetável (lidocaína). O implante foi realizado na região mediana do comprimento rostro-cloacal e os animais foram tratados com um antibiótico (enrofloxacino) logo após a cirurgia. Registradores de temperatura idênticos àqueles implantados nos animais também foram colocados dentro da câmara climática onde os experimentos foram realizados. Os registros de temperatura foram programados para serem realizados a cada 10 minutos.

3.5 Tratamento e Análise dos dados

A TMR para as temperaturas constantes (TCs) e flutuantes (TFs, ver item 3.4) foi estimada como a média dos valores de $\dot{V}O_2$ dos animais em jejum, ao longo dos três últimos dias de medição. Para os regimes flutuantes de temperatura, todos os dados de TMR obtidos anteriormente à estabilização da temperatura corpórea das serpentes junto à estabilização da câmara climática foram excluídos, sendo considerados para análise apenas os dados obtidos após esse equilíbrio (ver item 4.1). TI representa a temperatura isolada durante o regime flutuante (i.e., são os dados apenas das 12 horas em que os animais estavam em determinada temperatura constante). A fim de uma maior facilidade na compreensão, sempre que utilizarmos o termo TI, apresentaremos também, entre parênteses, o regime flutuante correspondente e, em negrito, o termoperíodo que foi isolado, por exemplo: “20°C_TI (**20-30**)”.

Os testes estatísticos foram realizados comparando as TMRs: (I) entre as diferentes temperaturas do regime constante; (II) entre as temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C do regime constante vs aquelas obtidas no regime flutuante correspondente (i.e, 15-25, 20-30, 25-35); e, (III) entre as cinco temperaturas determinadas no regime constante vs as TIs correspondentes. Por fim, verificamos ainda a sensibilidade térmica (Q_{10}) entre todos os intervalos das TCs e TFs.

Em todas as comparações, entre diferentes faixas de temperatura e diferentes regimes térmicos, empregamos o teste ANOVA para Medidas Repetidas. Em seguida, nos casos em que houve diferença estatística, utilizamos o teste post-

hoc Student-Newman-Keuls, a fim de verificar quais pares de tratamento apresentaram diferença significativa entre si. Nós apresentamos nossos resultados como média \pm EP (erro padrão). O nível de significância adotado foi $P < 0,05$.

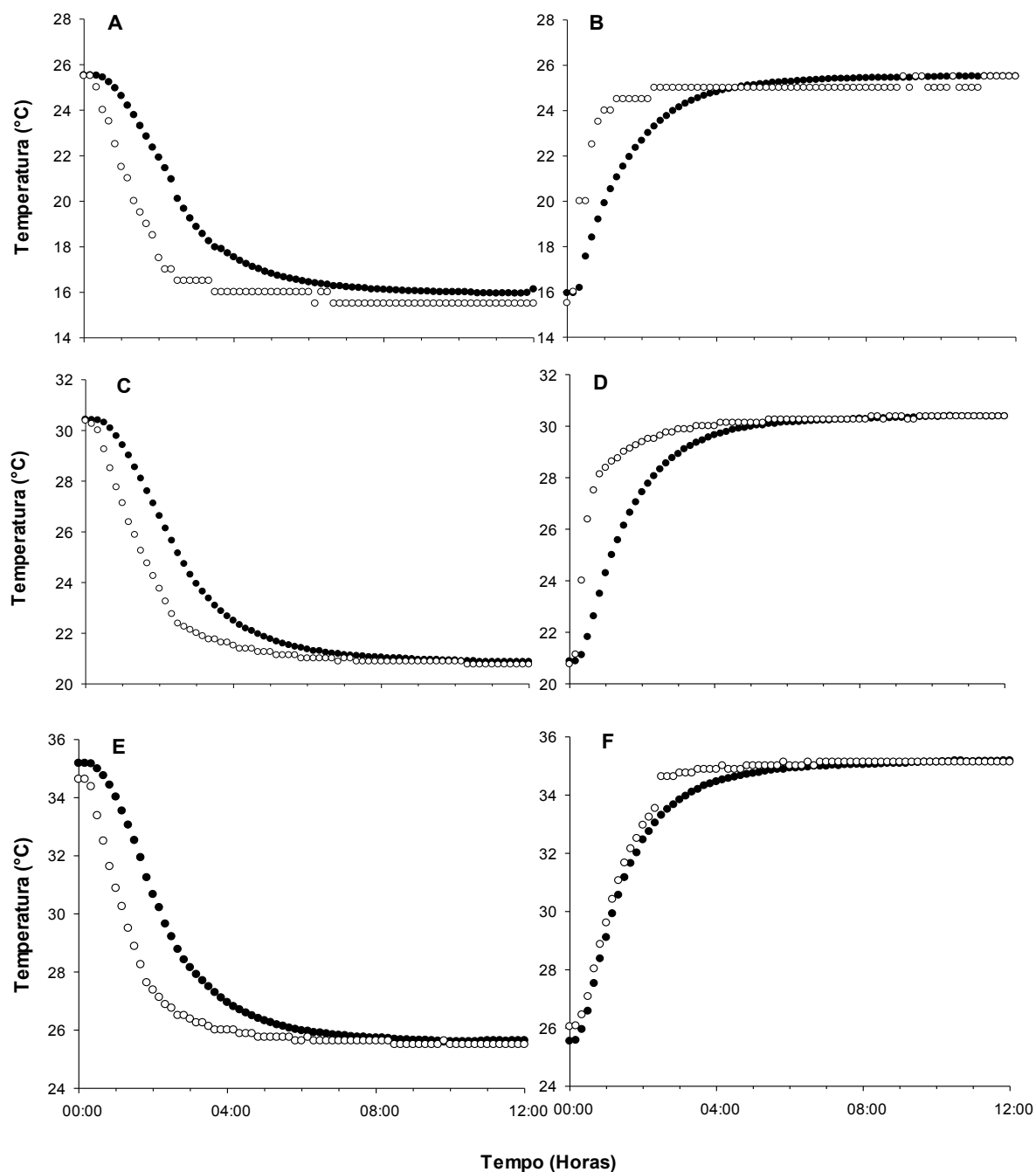
4 RESULTADOS

4.1 Massa corpórea e validação dos regimes termais

A massa corpórea das cascavéis ($450,5 \pm 12,36$ g) não variou significativamente entre todos os tratamentos ($P = 0,137$) (Tabela 1).

As alterações de temperatura dos regimes flutuantes demandaram várias horas para serem efetivadas nas alterações correspondentes de temperatura corpórea. Para o regime flutuante de 15 a 25°C (Figura 5A e 5B), a câmara climática levou aproximadamente 3 horas para estabilizar a temperatura mais baixa e 2 horas para estabilizar a temperatura mais alta. A temperatura corpórea das cascavéis, por sua vez, estabilizou-se com a temperatura experimental (com um erro de $\pm 1,0^\circ\text{C}$), após aproximadamente 5 horas e 4 horas, respectivamente. Para o regime flutuante de 20 a 30°C (Figura 5C e 5D), a câmara climática levou aproximadamente 4 horas para estabilizar a temperatura mais baixa e 3 horas para estabilizar a temperatura mais alta. A temperatura corpórea das serpentes estabilizou-se com a temperatura experimental ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) após aproximadamente 6 e 5 horas, respectivamente. No regime flutuante de 25 a 35°C (Figura 5E e 5F), a câmara climática levou 4 horas para estabilizar-se na temperatura menor e 2 horas na maior. A temperatura corpórea das serpentes estabilizou-se com a temperatura experimental ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) aproximadamente após 5 e 4 horas, respectivamente.

Figura 5 – Variação da temperatura corpórea (círculos pretos) e experimental (círculos brancos) nos três regimes termais flutuantes. A e B ilustram as alterações de temperatura do regime 20_TF para a mudança de 25 para 15°C e de 15 para 25°C, respectivamente; C e D ilustram as alterações de temperatura do regime 25_TF para a mudança de 30 para 20°C e de 20 para 30°C, respectivamente; E e F ilustram as alterações de temperatura do regime 30_TF para a mudança de 35 para 25°C e de 25 para 35°C, respectivamente.

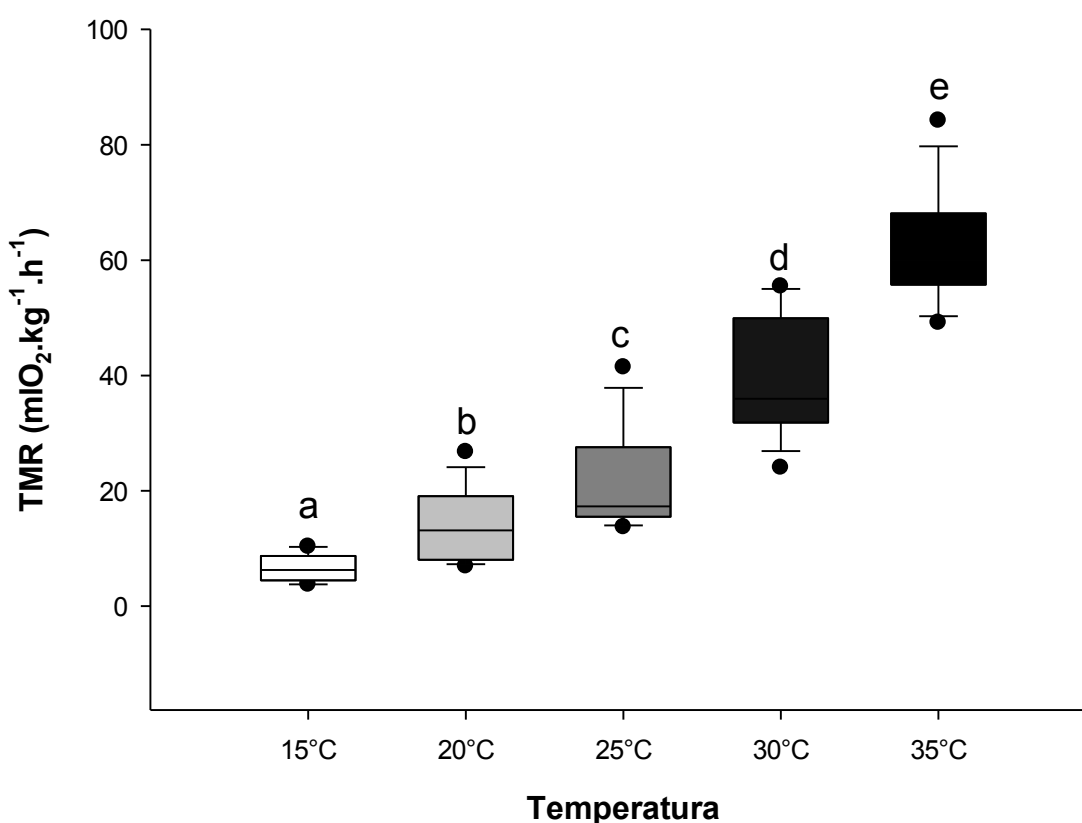


Fonte: elaborado pelo próprio autor.

4.2 TMR em regimes térmicos constantes e Q_{10}

A TMR de *C. durissus* aumentou com o aumento da temperatura para todos os intervalos de temperatura testados sob regime constante (15 vs 20°C, $P = 0,011$; 20 vs 25°C, $P = 0,005$; 25 vs 30°C, $P < 0,001$; 30 vs 35°C, $P < 0,001$; Tabela 1; Figura 6). Os coeficientes de temperatura (Q_{10}) variaram de 2,9 a 4,4 entre os diferentes intervalos testados e não apresentaram diferenças estatísticas entre si (Tabela 2; $P = 0,317$).

Figura 6 - Taxa metabólica de repouso (TMR) de *C. durissus* nas temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e 35°C. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Tabela 1 - Massa corpórea de *C. durissus* (n=13) e taxa metabólica de repouso (TMR) nas temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C.

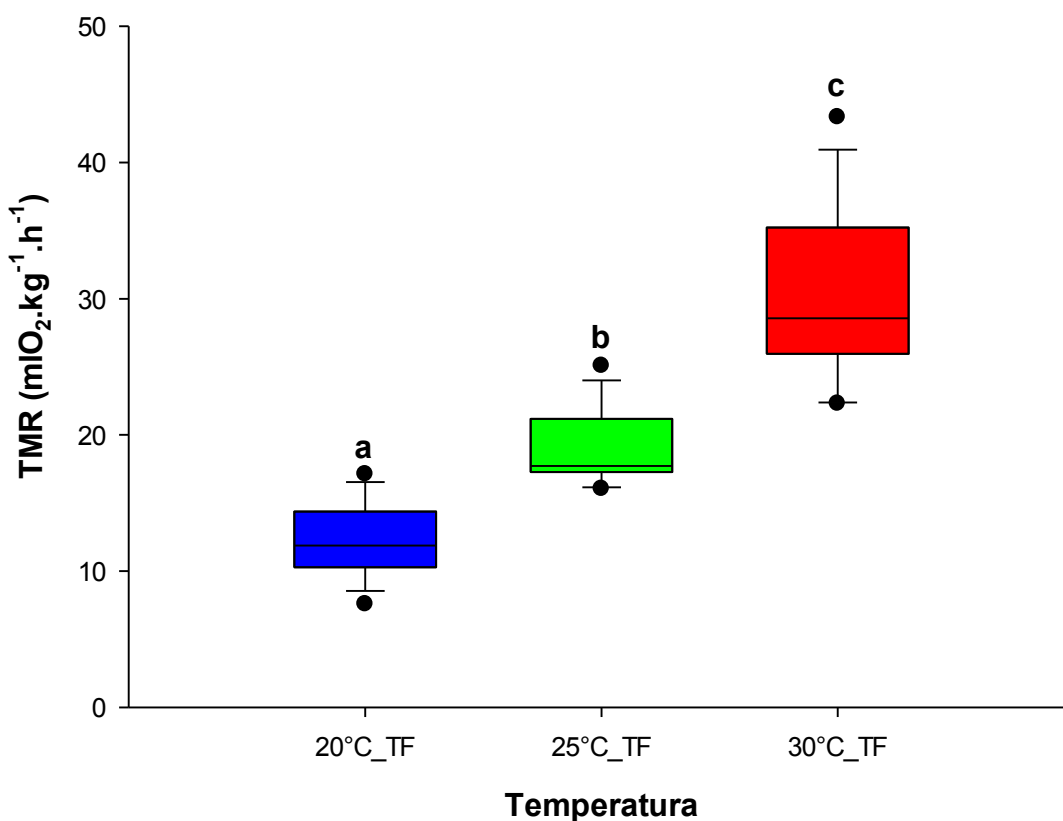
	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
Massa corpórea (g)	451±25,3	401±44,1	398±45,6	445±34,2	457,1±24,3
TMR (mlO₂.kg⁻¹.h⁻¹)	6,7±0,7	13,7±1,7	21,5±2,4	39,5±2,8	62,2±2,6

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

4.3 TMR em regimes térmicos flutuantes e Q_{10}

A TMR de *C. durissus* aumentou com o aumento da temperatura média dos três regimes de temperaturas flutuantes medidas ($P < 0,001$ para todos os casos; Tabela 3; Figura 7). Os valores de Q_{10} para os intervalos de 20°C_TF a 25°C_TF, de 25°C_TF a 30°C_TF e de 20°C_TF a 30°C_TF, não apresentaram diferenças estatísticas (média = $2,66 \pm 0,22$; Tabela 4; $P = 0,53$).

Figura 7 - Taxa metabólica de repouso (TMR) de *C. durissus* nas temperaturas flutuantes de 20°C_TF (azul), 25°C_TF (verde) e 30°C_TF (vermelho). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Tabela 2 - Massa corpórea de *C. durissus* (n=13) e taxa metabólica de repouso (TMR) nas temperaturas flutuantes de 20°C_TF, 25°C_TF e 30°C_TF.

	20°C	25°C	30°C
Massa corpórea (g)	406,8±41,9	419,2±38,4	436,68±34,9
TMR (mlO₂.kg⁻¹.h⁻¹)	12,19±0,75	19,01±0,75	30,27±1,72

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Tabela 3 – Coeficientes de temperatura (Q₁₀) para as TMR de *C. durissus* em três intervalos de temperaturas flutuantes: 20°C_TF a 25°C_TF, 25°C_TF a 30°C_TF e 20°C_TF a 30°C_TF. ΔT – Intervalos de temperaturas.

ΔT	Q ₁₀
20-25°C	2,97±0,55
25-30°C	2,69±0,32
20-30°C	2,32±0,17

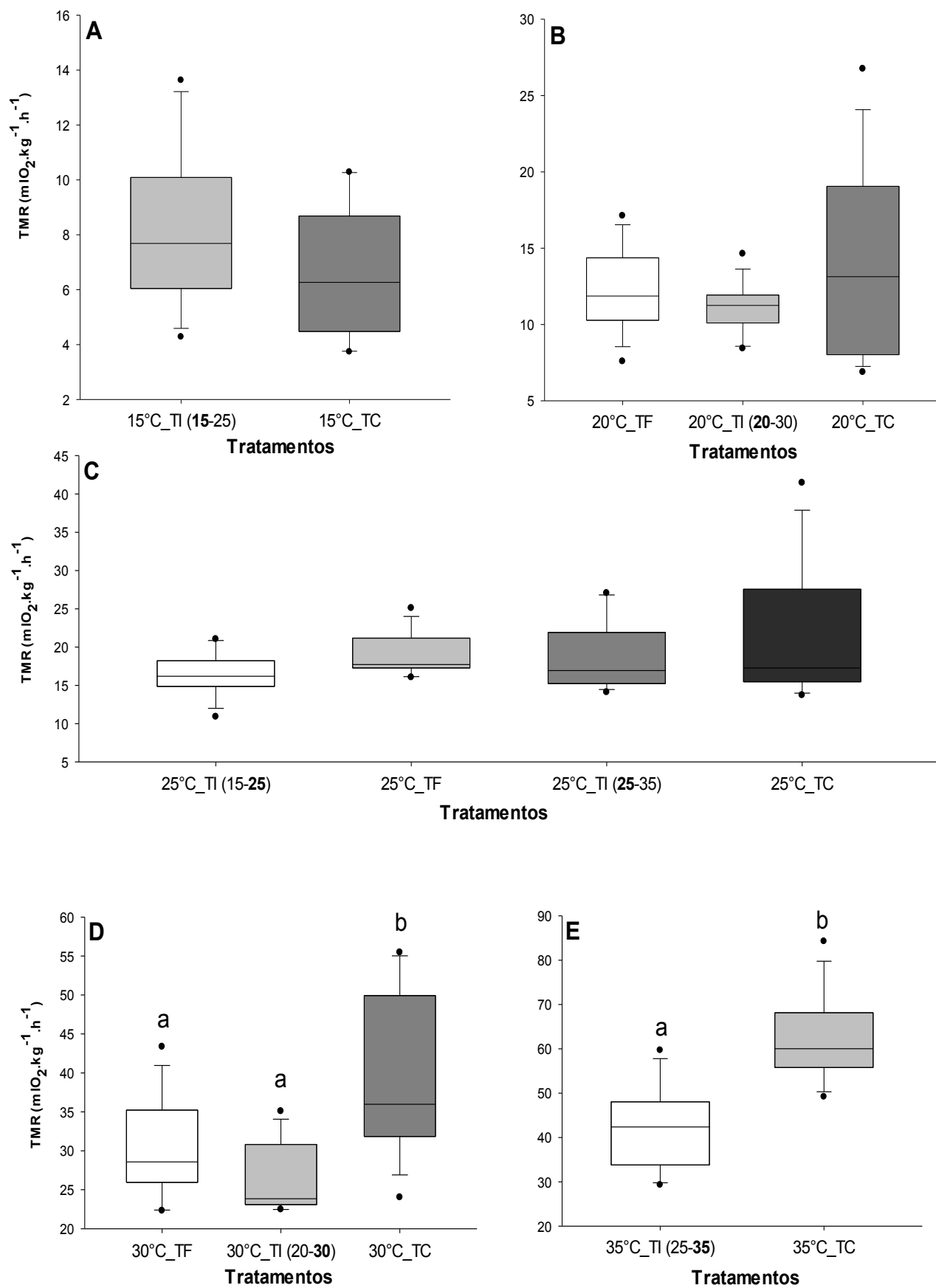
Fonte: elaborado pelo próprio autor.

4.4 TMR em regimes térmicos constantes vs TMR em regimes térmicos flutuantes

As TMRs medidas a 15°C_TI (15-25°C) e 15°C_TC não apresentaram diferenças significativas (Figura 8A; $P = 0,180$). As TMRs medidas a 20°C_TF, 20°C_TI (20-30°C) e 20°C_TC não apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 8B; $P = 0,208$). As TMRs medidas a 25°C_TF, 25°C_TI (15-25°C), 25°C_TI (25-35°C) e 25°C_TC não apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 8C; $P = 0,075$). As TMRs medidas a 30°C_TF e a 30°C_TI (20-30°C) foram estatisticamente menores do que a TMR medida a 30°C_TC (Figura 8D; 30°C_TF vs 30°C_TI (20-30), $P = 0,222$; 30°C_TF vs 30°C_TC, $P = 0,005$; 30°C_TI (20-30) vs 30°C_TC, $P < 0,001$). As TMRs medidas a 35°C_TI (25-35°C) foram significativamente menores do que a medida a 35°C_TC (Figura 7E; $P < 0,001$).

Todas as TMRs obtidas nas temperaturas constantes, flutuantes e isoladas estão representadas na Tabela 5.

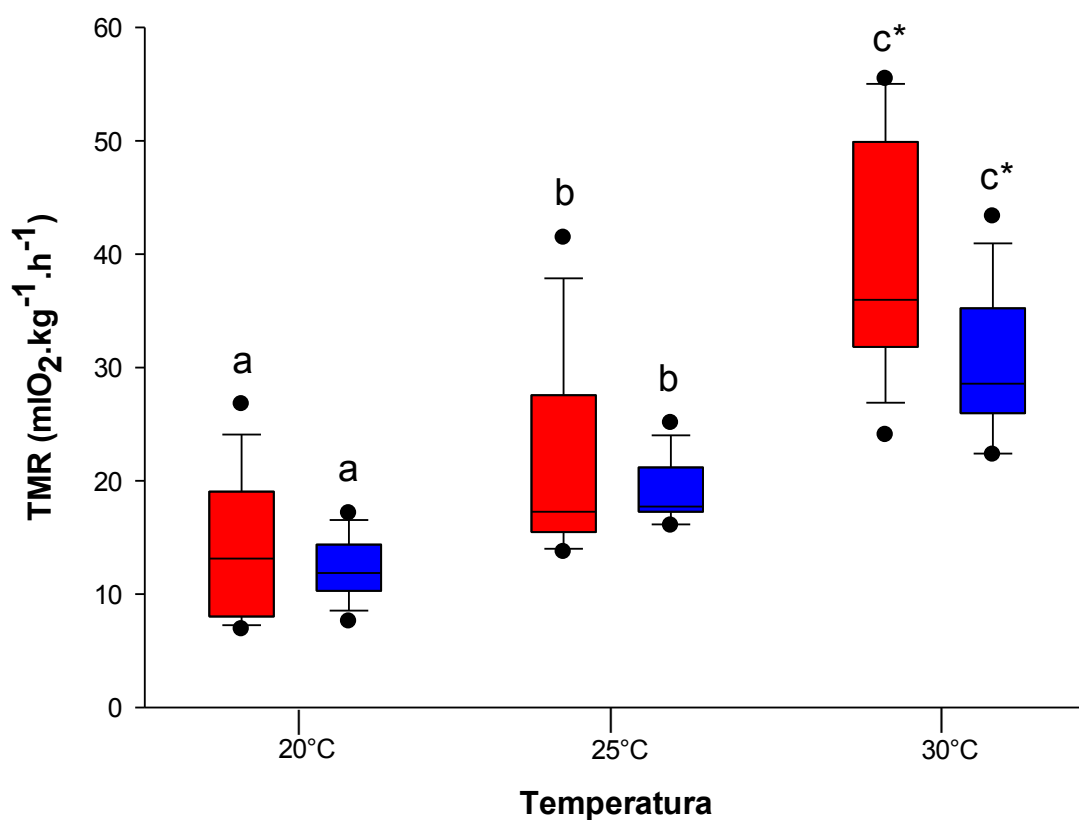
Figura 8 - TMR de *C. durissus* nas temperaturas constantes, flutuantes e isoladas. **A)** 15°C_TI/TC; **B)** 20°C_TI/TF/TC; **C)** 25°C_TI/TF/TC; **D)** 30°C_TI/TF/TC; e **E)** 35°C_TI/TC. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Comparando as TMR obtidas em regimes de temperaturas constantes apenas com as obtidas nos seus regimes flutuantes correspondentes observamos que existe diferença significativa entre as maiores temperaturas, sendo que a TMR obtida no regime de 30°C_TC é maior do que a obtida em 30°C_TF (Figura 9).

Figura 9 - Variação da TMR de *C. durissus* nos regimes constantes (20°C, 25°C e 30°C; caixas vermelhas) e nos regimes flutuantes (15-25°C = média 20°C; 20-30°C = média 25°C; e 25-35°C = média 30°C; caixas azuis) de temperatura. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre as temperaturas de um mesmo regime termal; o asterisco denota diferença estatística entre os tratamentos constantes e flutuantes. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Tabela 4 – Valores de taxa metabólica de repouso ($\text{mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) de *C. durissus* nas temperaturas constantes (TC), flutuantes (TF) e isoladas (TI).

	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
TC	6,65 ± 0,66	13,72 ± 1,69	21,54 ± 2,4	39,54 ± 2,84	62,2 ± 2,67
TF	---	12,19 ± 0,75	19,01 ± 0,75	30,72 ± 1,72	---
TI	8,21 ± 0,83 (15-25°C)	11,11 ± 0,44 (20-30°C)	16,38 ± 0,77 (15-25°C) 18,64 ± 1,23 (25-35°C)	26,54 ± 1,22 (20-30°C)	42,34 ± 2,63 (25-35°C)

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

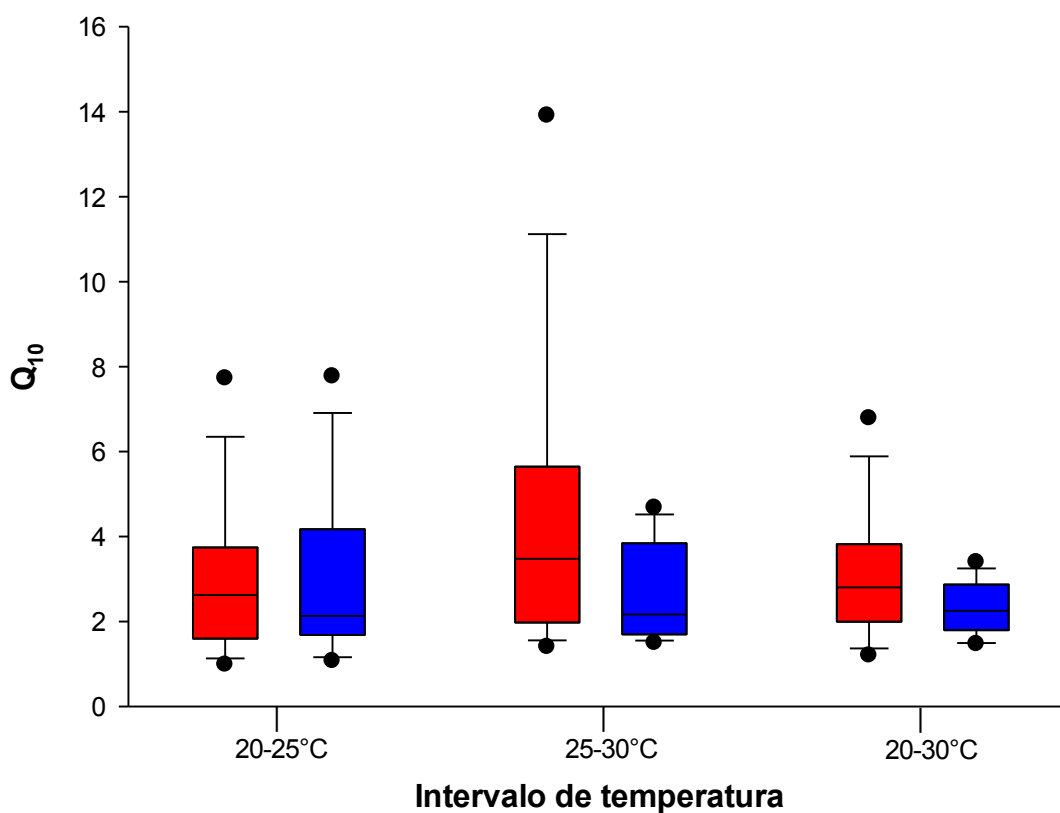
Os valores de Q_{10} obtidos para os intervalos entre os tratamentos flutuantes, embora menores do que os obtidos para os mesmos intervalos de temperaturas constantes, não atingiram diferença significativa quando comparados entre si ($P > 0,1$ em todos os casos; Tabela 6; Figura 10).

Tabela 5 – Coeficientes de temperatura (Q_{10}) para as TMR constantes e flutuantes de *C. durissus* em três intervalos de temperaturas: 20°C a 25°C, 25°C a 30°C e 20°C a 30°C. ΔT – Intervalos de temperaturas.

ΔT	$Q_{10\text{constante}}$	$Q_{10\text{flutuante}}$
20-25°C	2,99 ± 0,49	2,97±0,55
25-30°C	4,44 ± 0,93	2,69±0,32
20-30°C	3,04 ± 0,41	2,32±0,17

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 10 - Coeficientes de temperatura (Q_{10}) da variação da TMR de *C. durissus* nos intervalos dos regimes constantes (caixas vermelhas) e dos regimes flutuantes (caixas azuis) correspondentes. As linhas que cortam as caixas representam as medianas das amostras. Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. Os pontos denotam valores atípicos nas amostragens.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

5 DISCUSSÃO

5.1 TMR em regimes térmicos constantes e Q_{10}

A TMR encontrada para *C. durissus* no presente estudo foi congruente com aquelas previstas com base na massa corpórea e temperatura por Andrews e Pough (1985) para Squamata em geral. A 30°C constante, a TMR de *C. durissus* encontrada no presente trabalho foi cerca de 20% menor do que aquela encontrada por Andrade et al., (1997), para esta mesma espécie de serpente. Entretanto, Andrade et al., (1997) utilizaram serpentes juvenis com massa corpórea de aproximadamente 60 g, um tamanho corpóreo cerca de 7,5 vezes menor que os indivíduos do presente estudo. Assim, é possível que a diferença nos valores de TMR entre estes dois estudos esteja relacionada a diferenças na massa corpórea dos animais (Templeton, 1970; Whitford, 1973; Hayssen e Lacy, 1985; McKechnie e Wolf, 2004).

Em todas as faixas de temperatura testadas (Tabela 6), nossos valores de Q_{10} foram maiores do que os valores compilados para Squamata por Andrews e Pough (1985). O valor de Q_{10} calculado para *C. durissus* entre 20 e 25°C é semelhante aos encontrados para outras duas espécies da família Viperidae, *Agkistrodon piscivorus* (McCue e Lillywhite, 2002) e *Bothrops alternatus* (Gavira e Andrade, 2013b). Não encontramos na literatura valores de Q_{10} próximos ao que calculamos entre 25°C e 30°C. O valor do Q_{10} calculado para o intervalo total de 20 e 30°C foi similar aqueles reportados por Chappel e Ellis (1987) para boídeos e Dorcas et al. (2004) para a cascavel costa de diamante (*Crotalus adamanteus*). Nesta mesma faixa, o Q_{10} foi maior que o encontrado por Cruz-Neto e Abe (1994) para *Bothrops moojeni* e menor que o encontrado por Beaupre e Zaidan III (2001) para uma cascavel madeira (*Crotalus horridus*). Portanto, observamos que existe uma variação para esse parâmetro entre as espécies de Viperidae já amostradas, e as razões para isso ainda são incertas.

Tabela 6 - Coeficiente de temperatura (Q_{10}) para as TMR de *C. durissus* em três intervalos de temperaturas constantes (20 a 25°C, 25 a 30°C e 20 a 30°C) e comparação com alguns dos valores já conhecidos em literatura.

	20 a 25°C	25 a 30°C	20 a 30°C	Referência
<i>C. durissus</i>	2,99 ± 0,49	4,44 ± 0,93	3,04 ± 0,41	Presente estudo
Squamata	2,4	2,4	2,4	Andrews e Pough (1985)
Boidae	--	--	2,61	Chappel e Ellis (1987)
<i>Bothrops moojeni</i>	--	--	1,89	Cruz-Neto e Abe (1994)
<i>Crotalus horridus</i>	--	--	4,25	Beaupre e Zaidan III (2001)
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	2,58	2,48	--	Mccue e Lillywhite (2002)
<i>Crotalus adamanteus</i>	--	--	3,30	Dorcas et al. (2004)
<i>Bothrops alternatus</i>	2,64	2,64	--	Gavira e Andrade (2013b)

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

5.2 TMR em regimes térmicos constantes vs TMR em regimes flutuantes

A TMR de *C. durissus* foi significativamente maior no regime termal constante de 30°C, quando comparada ao regime de 30°C_TF. O mesmo padrão foi encontrado para a serpente *Bothrops alternatus*, porém a 25°C (Gavira e Andrade, 2013b). Isso indica que a manutenção de serpentes em regimes constantes de temperatura leva a um aumento nas taxas metabólicas de repouso. Porém, estas diferenças podem ser manifestadas em diferentes faixas de temperatura na dependência da biologia termal da espécie considerada. Uma possível explicação para as diferenças de TMR entre os regimes flutuantes e constantes poderia estar relacionada com diferenças na dinâmica das alterações da temperatura experimental. Ou seja, se o tempo necessário para o equilíbrio entre a temperatura corpórea dos animais e a temperatura experimental diferirem na dependência da mudança de temperatura, de forma que as alterações na temperatura corpórea das

serpentes não refletissem exatamente a temperatura média esperada. Isso de fato se confirmou com nossos dados e tanto a temperatura experimental (dentro da câmara climática) quanto a temperatura corpórea, em geral, esquentaram-se mais rapidamente do que resfriaram. No entanto, os potenciais efeitos desta histerese térmica foram evitados em nosso estudo, pois nossos cálculos da TMR foram realizados considerando horas após a alteração de temperatura, quando a temperatura corpórea das serpentes já havia entrado em equilíbrio com a nova condição. Porém, é ainda possível que, mesmo em equilíbrio térmico, algum efeito residual das alterações prévias da temperatura ainda pudessem estar em ação. O que não afeta as conclusões discutidas abaixo.

A diminuição da taxa metabólica de repouso que observamos, ao comparar o regime de 30°C constante com o regime flutuante de 30°C, pode ser explicada pelo fato de a TMR registrada para 35°C_TI (25-35) ter sido 32% menor do que a obtida a 35°C_TC, ao passo que a TMR obtida a 25°C_TI (25-35) foi apenas 8,6% menor do que TMR a 25°C_TC. Da mesma forma, embora a TMR determinada a 30°C_TI (20-30) tenha sido estatisticamente menor do que a TMR a 30°C_TC, não houve diferença significativa entre as TMRs obtidas nos regimes constante e flutuante de 25°C. Ainda, para as menores temperaturas, i. e., 15°C e 20°C, o regime térmico flutuante não exerceu influência marcante na TMR de *C. durissus*. Isso demonstra que os efeitos de regimes térmicos constantes e flutuantes sobre a TMR se tornam mais evidentes com o aumento da temperatura. Carey (1979), para anfíbios, encontrou um padrão diferente do que apresentamos nesse trabalho. Seus resultados apontaram que o incremento metabólico com o aumento da temperatura seria maior no regime flutuante do que no regime constante. Porém, foram usadas duas espécies de anfíbios e apenas um regime de temperatura flutuante que ia de 5 até 30°C, ou seja, uma mudança mais brusca (no período de uma hora a uma hora e meia, os animais experimentavam uma mudança de 25°C) do que os regimes flutuantes usados no nosso trabalho, que foram de 10°C entre as maiores e as menores temperaturas.

Os valores de Q_{10} calculados em nosso estudo, para regimes de temperatura constante e flutuante, não diferiram estatisticamente entre si. No entanto, notamos que em todas as comparações os valores médios de Q_{10} dos regimes flutuantes são menores do que os encontrados para os regimes constantes e, assim como demonstrado para as taxas metabólicas de repouso, essa diferença se torna mais

marcante com o aumento de temperatura. Essas diferenças podem ser associadas ao regime térmico utilizado, devido ao incremento na TMR de *C. durissus* ser maior nas temperaturas constantes. O valor médio de Q_{10} é similar nas temperaturas de 20 e 25°C, que apresentaram as menores diferenças, ao comparar as TMRs obtidas nos regimes térmicos constantes vs flutuante. Já o valor médio de Q_{10} entre 25°C e 30°C é 39% menor no regime flutuante de temperatura. O índice Q_{10} apresenta uma grande variação entre os indivíduos a 25°C e 30°C (1,4 à 13,9 no regime constante e 1,5 a 4,7 no regime flutuante; n = 13 em ambos os casos), mas todos os valores maiores que 5 foram calculados para os indivíduos nos regimes constantes (n= 5). O cálculo dos valores de Q_{10} , mesmo estes não demonstrando diferenças significativas, ajudou a demonstrar o mesmo padrão geral que encontramos para TMRs, ou seja, as diferenças entre temperaturas constantes e flutuantes se tornam maiores conforme se aumenta a temperatura.

Embora essa diferença nas taxas metabólicas medidas em regimes constantes e flutuantes de temperatura exista e já tenha sido demonstrada em outros trabalhos (Bozinovic et al., 2013; Gavira e Andrade, 2013b; Stahlschmidt, Jodrey e Luoma, 2015), ainda não há uma explicação definitiva para esta observação. Existem evidências de que essa diferença notada entre regimes térmicos constantes e flutuantes esteja associada à manutenção de ectotérmicos em temperaturas constantes por períodos prolongados de tempo, ocasionando um potencial estresse térmico nesses animais (Niehaus et al., 2012). A explicação para isso é que ectotérmicos, de uma maneira geral, estão acostumados a enfrentar uma variação circadiana considerável na temperatura corpórea (Kingsolver, Higgins e Augustine, 2015; Colinet et al., 2015). O próximo passo para resolver esta questão seria a medição dos níveis de agentes estressores no sangue desses animais, logo após a manutenção em regimes constantes e em regimes flutuantes de temperatura.

Nosso trabalho demonstra que resultados obtidos em regimes constantes de temperatura devem ser tratados com cautela, pois a temperatura constante afeta de maneira significativa a taxa metabólica de ectotérmicos. Vários trabalhos (Bozinovic et al., 2013; Gavira e Andrade, 2013b; Colinet et al., 2015; Stahlschmidt, Jodrey e Luoma, 2015), e agora o nosso, apontam para a mesma direção: o uso de regimes termais constantes pode subestimar e/ou superestimar as taxas metabólicas obtidas nas diferentes temperaturas experimentais sendo que, ao menos para *C. durissus*, estas diferenças se tornam mais marcantes conforme se aumenta a temperatura.

6 CONCLUSÃO

A temperatura, constante ou flutuante, afeta de maneira significativa a TMR de *Crotalus durissus*. Ademais, a TMR foi significativamente afetada pelo tipo de regime térmico utilizado, sendo que, em temperaturas mais elevadas, as TMR obtidas em regimes flutuantes foram significativamente menores do que as obtidas em regimes constantes. Essa observação indica que determinações metabólicas conduzidas sob regime térmico constante podem levar a uma superestimativa da TMR.

Finalmente, devido aos maiores valores de TMR obtidos no regime constante de temperatura, nossos resultados sugerem um potencial estresse térmico sofrido por ectotérmicos nesse tratamento. Portanto, recomendamos que a biologia termal dos animais seja levada em consideração em estudos focando relações energéticas de animais ectotérmicos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; V. J. GERMANO. *Crotalus durissus* (Neotropical Rattlesnake). Prey. **Herpetological Review**, v. 27, n. 3, p. 143, 1996.
- ALFORD, R. A.; RICHARDS, S. J. Global Amphibian Declines: A Problem in Applied Ecology. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 30, p. 133-165, 1999.
- ANDRADE, D. V.; CRUZ-NETO, A. P.; ABE, A. S. Meal size and specific dynamic action in the rattlesnake *Crotalus durissus* (Serpentes: Viperidae). **Herpetologica**, v. 53, n. 4, p. 485-493, 1997.
- ANDRADE, D.V. et al. Specific dynamic action in ectothermic vertebrates: a review of determinantes of postprandial metabolic response in fishes, amphibians and reptiles. In: **Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates**. Starck, J.M., Wang, T., Eds, Science Publisher, Enfield, NH. Cap. nº 12, p. 306-324, 2005.
- ANDREWS, R. M.; POUGH, F. H. Metabolism of Squamate Reptiles: Allometric and Ecological Relationships. **Physiological Zoology**, v. 58, n. 2, p. 214-231, 1985.
- ANGILLETTA, M. J.; NIEWIAROWSKI, P.H.; NAVAS, C.A. The evolution of thermal physiology in ectotherms. **Journal of Thermal Biology**, v. 27, p. 249-268, 2002.
- ANGILLETTA, M. J. **Thermal Adaptation: a Theoretical and Empirical Synthesis**. Oxford, USA: Oxford University Press, 2009. 304 p.
- AYERS, D. Y.; SHINE, R. Thermal influences on foraging ability: body size, posture and cooling rate of an ambush predator, the python *Morelia spilota*. **Functional Ecology**, v. 113, p. 342-347, 1997.
- BEAUPRE, S. J. An Ecological Study of Oxygen Consumption in the Mottled Rock Rattlesnake, *Crotalus Lepidus Lepidus* and the Black-Tailed Rattlesnake, *Crotalus molossus molossus*, from Two Populations. **Physiological Zoology**, v. 66, n. 3, p. 437-454, 1993.
- BEAUPRE, S. J.; Z Aidan III, F. Scaling of CO₂ in the Timber Rattlesnakes (*Crotalus horridus*), with Comments on Cost of Growth in Neonates and Comparative Patterns. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 74, n. 5, p. 757-768, 2001.
- BENNETT, A. F.; DAWSON, W. R. Metabolism. In: GANS, C. (Ed.). **Biology of the Reptilia, Phisiology A**. V. 5. Academic Press, New York. Vol. 5, p. 127-223, 1976.
- BÉRNIL, R. S.; H. C. COSTA (org.). **Sociedade Brasileira de Herpetologia: Répteis brasileiros - Lista de espécies**. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br/>>. Acesso em: 01 maio 2013.
- BESSLER, S.M., STUBBLEFIELD, M.C., ULTSCH, G.R. & SECOR, S.M. Determinants and modeling of specific dynamic action for the garter snake (*Thamnophis sirtalis*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 88, p. 808-820, 2010.

BLEM, C. R.; KILLEEN, K. B. Circadian Metabolic Cycles in Eastern Cottonmouths and Brown Water Snakes. **Journal of Herpetology**, v. 27, n. 3, p. 341-344, 1993.

BOZINOVIC, F. et al. The Mean and Variance of Environmental Temperature Interact to Determine Physiological Tolerance and Fitness. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 84, n. 6, p. 543-552, 2011.

BOZINOVIC, F. et al. Acclimation to daily thermal variability drives the metabolic performance curve. **Evolutionary Ecology Research**, v. 15, n. 3, p. 579-587, 2013.

BRAGA, L. G. T.; LIMA, S. L. Influência da temperatura ambiente no desempenho da rã-touro, *Rana Catesbeiana* (Shaw, 1802) na fase de recria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1659-1663, 2001.

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of Latin American**. Ithaca, USA: Cornell University Press, 1989. 425 p.

CAREY, C. Effect of Constant and Fluctuating Temperatures on Resting and Active Oxygen Consumption of Toads, *Bufo boreas*. **Oecologia**, v. 39, p. 201-212, 1979.

CARRINGTON, L. B. et al. Effects of Fluctuating Daily Temperatures at Critical Thermal Extremes on *Aedes aegypti* Life-History Traits. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, 2013.

CHAPPELL, M. A.; ELLIS, T. M. Resting metabolic rates in boid snakes: allometric relationships and temperature effects. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 157, p. 227-235, 1987.

CITADINI, J. M.; NAVAS, C. A. Inter-individual variation and temperature-dependent antipredator behavior in the snake *Tomodon dorsatus* (Dipsadidae). **Behavioural Processes**, v. 97, p. 11-17, 2013.

COLINET, H. et al. Insects in Fluctuating Thermal environments. **Annual Review Entomology**, v. 60, p. 123-140, 2015.

CRUZ-NETO, A. P.; ABE, A. S. Ontogenetic variation of oxygen uptake in the pitviper *Bothrops moojeni* (Serpentes: Viperidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 108, p. 549-554, 1994.

DMI'EL, R. Circadian rhythm of oxygen consumption in snake embryos. **Life Science**, v. 8, n. 24, p. 1333-1341, 1969.

DMI'EL, R. Growth and metabolism in snake embryos. **Journal of embryology and experimental morphology**, v. 23, n. 3, p. 761-772, 1970.

DORCAS, M.E.; HOPKINS, W. A.; ROE, J. H. Effects of Body Mass and Temperature on Standard Metabolic Rate in the Eastern Diamondback Rattlesnake (*Crotalus adamanteus*). **Copeia**, v. 1, p. 145-151, 2004.

GAVIRA, R. S. B.; ANDRADE, D. V. Meal size effects on the postprandial metabolic response of *Bothrops alternatus* (Serpentes, Viperidae). **Zoologia**, v. 30, n.3, p. 291-295, 2013a.

GAVIRA, R. S. B.; ANDRADE, D. V. Temperature and thermal regime effects on the specific dynamic action of *Bothrops alternatus* (Serpentes, Viperidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 34, p. 483–491, 2013b.

HAYSSSEN, V.; LACY, R. C. Basal metabolic rates in mammals: Taxonomic differences in the allometry of BMR and Body Mass. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 81, p. 741-754, 1985.

HUEY, R. B.; STEVENSON, R. D. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. **American Zoology**, v. 19, p. 357-366, 1979.

HUEY, R. B. Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. In: GANS C.C., POUGH, F. H. (Eds.). **Biology of the reptilian**. V. 12, Physiology. New York: Academic Press, 1982, p. 25-74.

KINGSOLVER, J. G.; WOODS, H. A. Thermal sensitivity of growth and feeding in *Manduca sexta* caterpillars. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 70, n. 6, p. 631-638, 1997.

KINGSOLVER, J. G.; HIGGINS, J. K.; AUGUSTINE, K. E. Fluctuating temperatures and ectotherm growth: distinguishing non-linear and time-dependend effects. **The Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 2218-2225, 2015.

LOURDAIS, O. et al. Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. **Oikos**, v. 104, p. 551-560, 2004.

MARION, K. R. Reproductive Cues for Gonadal Development in Temperate Reptiles: Temperature and Photoperiod Effects on the Testicular Cycle of the Lizard *Sceloporus undulatus*. **Herpetologica**, v. 38, n. 1, p. 26-39, 1982.

MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. **Serpentes da Mata Atlântica: Guia Ilustrado para Serra do Mar**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. v. 1. 184 p.

MARQUES, O. A. V. et al. **Serpentes do Pantanal: guia ilustrado**. Ribeirão Preto: Holos, 2005. 179 p.

MCCUE, M.D.; LILLYWHITE, H.B. Oxygen consumption and the energetics of island-dwelling Florida cottonmouth snakes. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 75, p. 165-178, 2002.

MCCUE, M.D. Specific dynamic action: a century of investigation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 144, p. 381-394, 2006.

MCKECHNIE, A.E.; WOLF, B.O. The allometry of avian basal metabolic rate: good predictions need good data. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 77, p. 502-521, 2004.

MONDAL, S.; RAI, U. In vitro effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 129, n. 2, p. 391-398, 2001.

NIEHAUS, A. C., et al. Predicting the physiological performance of ectotherms in fluctuating thermal environments. **The Journal of Experimental Biology**, v. 215, p. 694-701, 2012.

OJANGUREN, A. F.; BRAÑTA, F. Thermal dependence of swimming endurance in juvenile brown trout. **Journal of Fish Biology**, v. 56, n. 6, p. 1342-1347, 2000.

PASSEK, K.M.; GILLINGHAM, J.G. Thermal influence on defensive behaviours of the Eastern garter snake, *Thamnophis sirtalis*. **Animal Behavior**, v. 54, p. 629-63, 1997.

POUGH, F. H. The advantages of ectothermy for tetrapods. **American Naturalist**, v. 115, n. 1, p. 92-112, 1980.

ROE, J. H. et al. The influence of circadian rhythms on pre- and post-prandial metabolism in the snake *Lamprophis fuliginosus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 139, n. 2, p. 159-168, 2004.

SANT'ANNA, S.; ABE, A. S. Diet of the rattlesnake *Crotalus durissus* in southeastern Brazil (Serpentes, Viperidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 42, n. 3, p. 169-174, 2007.

SAWAYA, R. J.; MARQUES, O. A. V.; MARTINS, M. Composition and natural history of a Cerrado snake assemblage at Itirapina, São Paulo state, southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 2, p. 129-151, 2008.

SECOR, S. M.; NAGY, K. A. Bioenergetic Correlates of Foraging Mode for the Snakes *Crotalus Cerastes* and *Masticophis Flagellum*. **Ecology**, v. 75, n 6, p. 1600-1614, 1994.

SECOR, S. M. Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 179, n. 1, p. 1-56, 2009.

STAHLSCHMIDT, Z. R.; JODREY, A. D.; LUOMA, R. L. Consequences of complex environments: Temperature and energy intake interact to influence growth and metabolic rate. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 187, p. 1-7, 2015.

STEVENSON, R. D.; PETERSON, C. R.; TSUJI, J.S. The thermal dependence of locomotion, tongue flicking, digestion, and oxygen consumption in the wandering garter snake. **Physiological Zoology**, v. 58, p. 46-57, 1985.

TEMPLETON, J.R. Reptiles. In: WHITTOW, G.C. (Ed.). **Comparative Physiology of Thermoregulation**. Academic Press, New York. Vol. 1, p. 167-221, 1970.

TOLEDO, L.F.; ABE, A.S.; ANDRADE, D.V. Temperature and meal mass effects on the post-prandial metabolism and energetics in a Boid Snake. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 76, n. 2, p. 240-246, 2003.

TOZETTI, A.M.; MARTINS, M. Daily and seasonal activity patterns of free range South-American rattlesnake (*Crotalus durissus*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 1047-1052, 2013.

VINEGAR, A. Evolutionary implications of temperature induced anomalies of development in snake embryos. **Herpetologica**, v. 30, p. 72-74, 1974.

VANZOLINI, P. E.; CALLEFFO, M. E. V. A Taxonomic bibliography of the South American snakes of the *Crotalus durissus* complex (Serpentes, Viperidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n.1, p. 37-83, 2002.

WANG, T. et al. Effects of temperature on the metabolic response to feeding in *Python molurus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 133, p. 519-527, 2003.

WEIL, M. R.; R. D. ALDRIDGE. The effect of temperature on the male reproductive system of the common water snake (*Nerodia sipedon*). **Journal of Experimental Zoology**, v. 210, p. 327-332, 1979.

WEINSTEIN, R. B. Effects of temperature and water loss on terrestrial locomotor performance in land crabs: integrating laboratory and field studies. **American Zoologist**, v. 38, n. 3, p. 518-527, 1998.

WHITFORD, W.G. The effects of temperature on respiration in the Amphibia. **American Zoologist**, v. 13, n. 2, p. 505-512, 1973.

ZAIDAN, F.; BEAUPRE, S.J. Effects of body mass, meal size, fast length, and temperature on specific dynamic action in the timber rattlesnake (*Crotalus horridus*). **Physiological and Biochemistry Zoology**, v. 76, p. 447-458, 2003.